

식물생장조절물질 말포민 B동족체의 화학구조 및 생리활성

김 건 우*

Chemical Structures and Physiological Activities of
Plant Growth Substance, Malformin B's

Kim K.W.*

ABSTRACT

Six malformin B's produced by *Aspergillus niger* van Tiegh. were separated by HPLC. Their structures determined by the methods of amino acid analyses, mass spectrometry, and two-dimensional NMR were revealed as cyclic pentapeptides structurally related to malformin A₁. Both the NMR and MS/MS data suggest that the respective structures of separated malformin B's were as follows; *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Leu-L-allo-Ile* for B_{1a}, *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Leu-L-Leu* for B_{1b}, *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Val-L-Leu* for B₂, *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Ile-L-Leu* for B₃, *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Ile-L-Ile* for B₄, and *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Val-L-Ile* for B₅. Among the malformin B's, the structure of B_{1b} was the same as that of malformin A₃ or C. All the malformin B's showed physiological activities in the two assay systems using corn(*Zea mays* L.) roots and mung bean(*Phaseolus aureus* Roxb.) hypocotyl segments. The malformin B's with molecular weight 529 were more effective for inducing corn root curvature than those with molecular weight 515. The difference in molecular weight of malformin B's, i.e., the retention time on HPLC, results in the polarity change of the whole malformin molecule which affects the revelation of the malformin activities. In addition, the disulfide form of the malformin B's gives the rigidity of the molecule, whereas the combination of the fourth and the fifth amino acid residues provides the optimal three-dimensional configuration to the malformin receptor of plants. Presumably, these two factors are appeared to be essential for the greatest physiological activity of malformin B's. Malformin B_{1a} caused the corn root curvature by 90% at a concentration of 0.25 μ M. However, such differential activities with molecular weight of 529 or 515 of malformin B's were not found in the mung bean hypocotyl segment test. Maximum stimulation of mung bean hypocotyl growth was observed at 0.1 μ M concentration of malformin B's. The growth of the segments treated with B₅ was 154% greater than that of the control.

Key words : Malformin B's, cyclic pentapeptide, root curvature, growth stimulation, *Aspergillus niger*

* 한국화학연구소(KRICT, P. O. Box 107, Yusong, Taejeon 305-606, Korea)

<1994. 11. 23 접수>

서 언

Curtis는 *Aspergillus niger* van Tiegh.의 배양 여액 중에 존재하는 물질(malformin)이 옥수수(*Zea mays* L.) 뿌리의 굴곡⁹⁾ 및 콩과식물의 줄기와 엽병에 있어서의 기형⁸⁾(malformation) 유도 등의 생리활성을 나타낸다는 것을 발견하였다. 이 물질은 Takahashi 등²³⁾에 의해 valine/leucine/isoleucine/cysteine의 4종 아미노산이 1/1/1/2의 몰비로 조성되어진 펩티드성 화합물로 밝혀졌으며, 이 화합물(말포민 A₁)의 화학구조는 Bodanszky 등^{3,4)}의 화학합성에 의하여 최초로 확인되었다. 최근까지 그 존재가 알려진 말포민류는 *A. niger*의 균주 56-39²³⁾와 58-883²²⁾으로부터의 말포민 A₁과 A₂, 균주 AN-1에서의 말포민 C) 및 균주 56-30²²⁾ 유래의 말포민 B₁과 B₂를 들 수 있으며, 이 중에서 말포민 A₁^{3,4)}과 C¹⁾는 그 구조가 확정된 바 있다.

한편, 말포민의 식물생리활성에 관해서도 다양하게 추구되어져 다수의 연구 결과가 축적되어 있으며, 말포민류의 연구에 있어서 식물생리 검정의 지표로 광범위하게 이용되어지는 옥수수의 근부굴곡⁹⁾ 및 녹두(*Phaseolus aureus* Roxb.)유묘 상배축절편의 신장 촉진¹²⁾ 이외에 옥수수의 근모와 측근의 형성 촉진¹⁷⁾, 강남채두(*Phaseolus vulgaris* L.)의 부정근 형성의 억제¹⁰⁾와 에틸렌과 파이토크롬이 관련된 생리반응의 유도¹¹⁾ 및 녹두의 이층 형성¹³⁾ 등이 보고되어져 있다. 최근, 식물분자생물학의 발전에 의해 식물의 생리현상에 관련된 유전자 및 기능단백질의 해명에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 말포민이 야기시키는 생리현상을 이와 같이 분자수준에서 추구하기 위해서는 정밀한 생화학적 실험이 요구되어진다. 실제로 이러한 연구방향의 모색이 시작되고 있음을 말포민 A₁에 있어서 수용단백질의 세포벽 존재 가능성을 추정한 보고^{6,7)}에서도 알 수 있다. 그러나, 지금까지의 연구에 사용된 시료는 주성분을 A₁과 A₂로 한 혼합물이어서 이러한 시도에는 부적합하므로 먼저 순수한 말포민의 확

보가 필요하다. 또, 말포민의 수용단백질을 검증하기 위해서는 말포민 관련 생리작용의 발현에 요구되어지는 화학구조적 요소의 명확한 파악과 더불어 유효한 분자프로브의 개발이 필수적이다.

이와 같은 사실들은 전보¹⁸⁾에서 말포민 A동족체를 단리·구조결정하여 구조·활성상관을 추구하게 된 계기를 부여한 바 있으며, 본 연구의 과제를 화학구조와 생리활성이 아직 불명확한 말포민 B류에 대한 구조의 해명 및 구조·활성상관의 조사에 두게 된 배경이 되었다.

재료 및 방법

1. 말포민 B의 HPLC에 의한 단리 및 정제

DMSO(Dimethyl sulfoxide)용액으로 한 말포민 B의 시료는, Capcell Pak C₁₈(10×250mm, Shiseido)칼럼과 용출용매계로 MeOH-H₂O-TFA(Trifluoroacetic acid)(70 : 30 : 0.5)를 사용한 HPLC에 의해 분석되었다. 유속은 2ml/min이었으며, 피크의 검출은 UV(254nm)와 RI로 하였다. 분취HPLC의 경우, 동일 칼럼을 사용하여 유속 2ml/min의 TFA 0.1%를 첨가한 MeOH-H₂O(58 : 42)를 용출용매계로 하였다. 피크의 검출 및 R_f치의 결정에는 UV검출기(254nm)를 사용하였다. 얻어진 각 분획을 감압하에서 메타놀 및 TFA를 유거한 후, 동결건조하였으며 그 결과, 분말상의 말포민이 획득되었다.

2. 말포민 B동족체의 산 가수분해

6N HCl에 녹인 5 μmol의 각 말포민 동족체를 N₂로 채운 시료관에 넣고 밀봉하여 110℃에서 20시간 동안 가열하였다. 실온에서 냉각 후, 감압하 데시케이터안에서 건조시켜 분말상의 산 가수분해물을 얻었다. 이 산 가수분해물을 100 μl의 증류수에 용해시켜 아미노산 분석용 시료로 하였다^{20,23)}.

3. FDAA 유도체

전기의 방법으로 각 말포민 동족체를 산 가

수분해한 후, 100 μ l의 증류수로 용해시켰다. 여기에 3.6 μ M FDAA(1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide)와 1M NaHCO₃용액 10 μ l를 가하여 40 $^{\circ}$ C로 1시간 가열·교반하였다. 실온에서 냉각된 반응용액에 10 μ l의 2M HCl을 가하여 수분간 교반한 후, 감압 건조하였다. 이 반응혼합물을 100 μ l DMSO에 용해시켜 HPLC용 분석시료로 하였다. 각 시료는 Senshu Pak ODS H-3151(10 \times 250mm, Senshu科學)칼럼, 유속 2ml/min의 MeOH-H₂O-AcOH(70 : 30 : 0.1)에 의해 분리되었으며, 각 피크는 UV 340nm로 검출하였다. 말포민을 구성하는 아미노산잔기들의 광학활성은 관측된 각 피크의 Rt과 표준 아미노산의 FDAA 유도체 피크의 Rt을 대조하여 결정하였다¹⁹⁾.

FDAA 유도체의 HPLC

말포민 B_{1a}. Rt(min) : 6.18(L-Val), 7.04(L-allo-Ile), 15.00(D-Leu)

말포민 B_{1b}. Rt(min) : 6.14(L-Val), 8.47(L-Leu), 15.84(D-Leu)

말포민 B₂. Rt(min) : 6.18(L-Val), 8.56(L-Leu), 10.32(D-Val)

4. 기기 분석

NMR스펙트럼은 JEOL JNM GSX400과 GX 500에 의해 측정하였으며, 용매로서 DMSO-*d*₆를 사용하였다. 피크위치(chemical shift) 값은, 내부표준인 TMS(tetramethylsilane)를 기준으로 하여 δ (ppm)으로 표시하였다. COSY(correlation spectroscopy) 및 NOESY(nuclear Overhauser and exchange spectroscopy)와 같은 2차원NMR 실험은 JEOL GX400에 의해 수행하였다. Mass스펙트럼은 Finnigan MAT INCOS 50 및 HITACHI M-80(HRMS : high resolution mass spectrometry)을 사용하여 얻었다. LC/MS/MS는 Finnigan Mat TSP 70B형 질량분석기를, 그리고 FAB/MS/MS는 Finnigan Mat TSQ-700형 질량분석기를 사용하였다. 또한, 아미노산조성은 Hitachi 835형 아미노산분석기에 의해 수행하였다.

말포민 B_{1a} (1).

¹H-NMR(DMSO-*d*₆) : δ 8.86(1H, d, *J*=3.67Hz),

8.55(1H, d, *J*=6.11Hz), 8.18(1H, d, *J*=8.54Hz), 7.15(1H, d, *J*=8.85Hz), 7.07(1H, d, *J*=10.99Hz), 4.76(1H, dt, *J*=1.52, 10.37Hz), 4.37(1H, dt, *J*=3.06, 9.16Hz), 4.25(1H, m), 4.02(1H, d, *J*=9.76 Hz), 4.00(1H, m), 3.56(1H, d, *J*=12.51Hz), 3.18(2H, m), 3.17(1H, m), 2.09(1H, m), 1.63(2H, m), 1.61(1H, m), 1.56(1H, m), 1.36(1H, m), 1.14(1H, m), 0.95-0.80(18H, m)

FAB MS : *m/z* 638.4(MC₃H₉O₂S⁺), 530.3(MH⁺), 391.0, 307.1, 293.0, 263.1, 235.0, 201.0

MH⁺의 MS/MS : *m/z* 530.1(MH⁺), 502.2, 485.2, 459.3, 434.0, 417.2, 389.2, 372.1, 344.2, 318.1, 304.1, 259.0, 231.0, 199.2, 185.1

HRMS *m/z*(M⁺) : C₂₃H₃₉N₅O₅S₂, 이론치 529.2392, 실측치 529.2388

말포민 B_{1b} (2).

¹H-NMR(DMSO-*d*₆) : δ 8.76(1H, d, *J*=3.66Hz), 8.45(1H, d, *J*=6.1Hz), 7.69(1H, d, *J*=8.85Hz), 7.37(1H, d, *J*=8.85Hz), 7.13(1H, d, *J*=10.99Hz), 4.74(1H, dt, *J*=5.19, 10.07Hz), 4.44(1H, dt, *J*=5.79, 9.15Hz), 4.20(1H, d, *J*=8.85Hz), 3.95-3.90(2H, m), 3.52(1H, dd, *J*=3.05, 14.95Hz), 3.35-3.25(2H, m), 3.23(1H, m), 2.03(1H, m), 1.60(2H, m), 1.51(1H, m), 1.42(2H, m), 1.37(1H, m), 0.92-0.80(18H, m)

FAB MS : *m/z* 638.3(MC₃H₉O₂S⁺), 530.3(MH⁺), 433.9, 337.0, 293.0, 224.8, 207.0

MH⁺의 MS/MS : *m/z* 530.3(MH⁺), 502.1, 434.0, 417.1, 389.1, 372.0, 344.1, 318.1, 304.0, 259.0, 231.1, 199.1, 185.1

HRMS *m/z*(M⁺) : C₂₃H₃₉N₅O₅S₂, 이론치 529.2392, 실측치 529.2387

말포민 B₂ (3).

¹H-NMR(DMSO-*d*₆) : δ 9.01(1H, d, *J*=4.15Hz), 8.61(1H, d, *J*=6.35Hz), 8.34(1H, d, *J*=8.54Hz), 7.26(1H, d, *J*=9.52Hz), 7.00(1H, d, *J*=10.98Hz), 4.73(1H, dt, *J*=3.66, 10.99Hz), 4.23(1H, dt, *J*=6.1, 9.28Hz), 4.17(1H, dd, *J*=8.06, 8.79Hz), 3.97(1H, dd, *J*=8.54, 10.5Hz), 3.97(1H, m), 3.53(1H, m), 3.30(1H, dd, *J*=11.48, 14.89Hz), 3.16(1H, m), 3.13(1H, m), 2.05(1H, m), 1.77(1H, m),

1.58(1H, m), 1.25(1H, m), 0.95-0.80(18H, m)

FAB MS : m/z 624.3($MC_3H_9O_2S^+$), 516.3(MH^+), 484.3, 419.2, 371.0, 327.0, 312.8, 293.0, 249.0, 235.0

MH^+ 의 MS/MS : m/z 516.2(MH^+), 471.1, 462.2, 417.1, 403.1, 372.1, 358.1, 318.0, 304.0, 259.0, 231.0, 199.0, 185.1, 171.1

HRMS $m/z(M^+)$: $C_{22}H_{37}N_5O_5S_2$, 이론치 515.2235, 실측치 515.2231

말포민 B₃ (4).

1H -NMR(DMSO- d_6) : δ 8.73(1H, d, $J=3.97$ Hz), 8.46(1H, d, $J=6.41$ Hz), 7.73(1H, d, $J=8.54$ Hz), 7.37(1H, d, $J=8.85$ Hz), 7.09(1H, d, $J=10.99$ Hz), 4.74(1H, d, $J=4.89$ Hz), 4.48(1H, dd, $J=6.41, 8.55$ Hz), 4.00(1H, dt, $J=3.66, 7.32$ Hz), 3.95(1H, dd, $J=8.55, 9.46$ Hz), 3.93(1H, m), 3.53(1H, dd, $J=2.75, 14.65$ Hz), 3.30-3.20(2H, m), 3.20(1H, m), 2.05(1H, m), 1.72(1H, m), 1.54(1H, m), 1.40(1H, m), 1.25(2H, m), 1.17(1H, m), 0.92-0.79(18H, m)

FAB MS : m/z 638.4($MC_3H_9O_2S^+$), 530.3(MH^+), 391.4, 323.0, 257.0, 235.0

MH^+ 의 MS/MS : m/z 530.3(MH^+), 417.2, 372.1, 318.1, 304.0, 259.0, 231.0, 199.1, 185.1

HRMS $m/z(M^+)$: $C_{23}H_{39}N_5O_5S_2$, 이론치 529.2392, 실측치 529.2394

말포민 B₄ (5).

1H -NMR(DMSO- d_6) : δ 8.92(1H, d, $J=3.36$ Hz), 8.65(1H, d, $J=6.41$ Hz), 8.43(1H, d, $J=9.16$ Hz), 7.12(1H, d, $J=9.46$ Hz), 7.02(1H, d, $J=10.68$ Hz), 4.72(1H, m), 4.37(1H, dd, $J=6.41, 9.46$ Hz), 4.00(1H, m), 3.95(1H, dd, $J=6.71, 11.6$ Hz), 3.91(1H, m), 3.53(1H, dd, $J=2.44, 14.95$ Hz), 3.30(2H, m), 3.13(1H, dd, $J=3.35, 13.74$ Hz), 1.51(1H, m), 1.48(1H, m), 1.21(2H, m), 1.18(2H, m), 0.90-0.75(18H, m)

FAB MS : m/z 638.4($MC_3H_9O_2S^+$), 530.3(MH^+), 391.3, 307.1, 293.0, 277.1, 235.0, 207.1

MH^+ 의 MS/MS : m/z 530.3(MH^+), 417.0, 372.0, 304.1, 259.0, 199.1, 185.1

HRMS $m/z(M^+)$: $C_{23}H_{39}N_5O_5S_2$, 이론치

529.2392, 실측치 529.2395

말포민 B₅ (6).

1H -NMR(DMSO- d_6) : δ 8.82(1H, d, $J=3.66$ Hz), 8.48(1H, d, $J=6.71$ Hz), 8.15(1H, d, $J=8.54$ Hz), 7.22(1H, d, $J=9.46$ Hz), 6.94(1H, d, $J=10.99$ Hz), 4.74(1H, dt, $J=4.27, 11.6$ Hz), 4.21(1H, dd, $J=7.63, 9.46$ Hz), 4.01(1H, dt, $J=3.66, 6.11$ Hz), 3.99(1H, d, $J=8.85$ Hz), 3.97(1H, d, $J=7.02$ Hz), 3.54(1H, dd, $J=2.74, 14.95$ Hz), 3.25(2H, m), 3.20(1H, m), 2.08(1H, m), 1.78(1H, m), 1.74(1H, m), 1.53(1H, m), 1.19(1H, m), 0.88-0.78(18H, m)

FAB MS : m/z 624.3($MC_3H_9O_2S^+$), 516.2(MH^+), 323.0, 293.0, 256.7, 235.0

MH^+ 의 MS/MS : m/z 516.2(MH^+), 471.2, 403.1, 358.1, 318.0, 304.3, 259.0, 185.1

HRMS $m/z(M^+)$: $C_{22}H_{37}N_5O_5S_2$, 이론치 515.2235, 실측치 515.2233

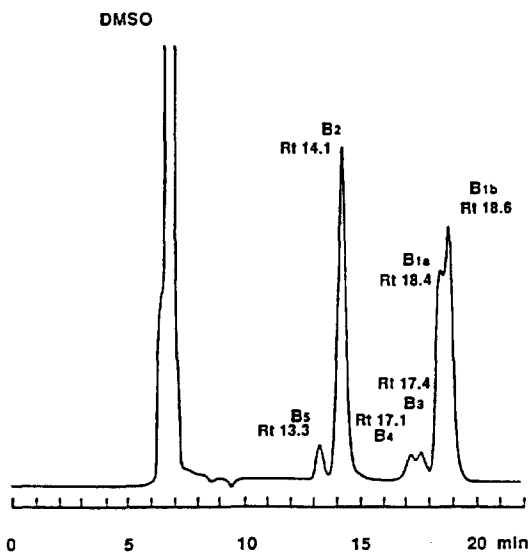
5. 식물생리활성 검증

옥수수수의 근부굴곡활성

소량의 DMSO에 용해시킨 시료에 증류수를 가하여 일정 농도로 조제한 후, 농도별로 희석하였다. 이 용액(6mℓ)을 페트리디쉬(10×50mm) 중의 여지(Advantec No. 1, Toyo)에 주입하고, 옥수수 종자(골덴크로스반담 70, 坂田種苗) 60립을 파종하였다. 수분의 유지를 위해 파라필름으로 밀봉한 다음, 28℃의 암소에 치상하여 24시간 후, 균일하게 발아된 종자 30립을 선발하였다. 동일 시료액(3mℓ)으로 처리한 페트리디쉬(9×20mm)안의 여지(Advantec No. 1, Toyo)상에 선발된 발아 종자를 각각 10립씩 3반복으로 치상하고, 이 페트리디쉬들을 파라필름으로 봉하여 동일 조건에서 48시간 동안 생육시킨 다음, 뿌리의 생장을 관찰하였다⁹⁾.

녹두 상배측의 신장활성

버미컬라이트에 파종된 녹두 종자(블랙머펫)를 29℃, 13,000 lux의 항온생장실에서 6일간 육성하였다. 균일한 묘묘를 선발하여 정아의 기부로부터 7cm의 위치에서 절단하였다. 이 상배측절편을 농도별로 조제한 시료용액(6mℓ)이 담긴 관병(20mℓ)에 각각 12개씩 삼입하여 전기



Solvent : MeOH/Water(70 : 30) containing 0.5% TFA
 Column : Capcell Pak C-18(10×250mm)
 Flow rate : 2ml/min
 Detection : UV 254nm

Fig. 1. Analysis of crude malformin B by reversed-phase HPLC.

의 조건에서 2일간 생육시킨 후, 상배축절편의 신장증가분을 측정하였다¹²⁾.

결과 및 고찰

구조 분석

조말포민 A의 경우¹⁸⁾, 역상ODS칼럼을 사용한 분취HPLC에 적용하여 효율 높은 정제가 가능하였으므로 조말포민 B를 DMSO(Dimethyl sulfoxide)용액으로 하여 HPLC에 의한 분리조건을 검토하였다(그림 1). 그림 1의 HPLC분석 결과, 조말포민 B는 6개의 피크성분으로 분리되었으며, 보고²²⁾된 것처럼 B₁과 B₂를 주성분으로 한 혼합물로 나타났다. 그러나, B₁으로 알려진 피크의 형상은 이 물질이 혼합물임을 시사하고 있으며, B_{1a}와 B_{1b}를 포함하고 있는 것으로 판명되었다. 조말포민 B에 함유된 B_{1a}, B_{1b}, B₃, B₄ 및 B₅의 존재비는 피크면적비로부터 각각 19 : 37 : 36 : 3 : 2 : 3으로 산출되었다.

단리된 말포민 B동족체들의 mass스펙트럼은 말포민 A류¹⁸⁾와 같이 m/z 529, m/z 515의 분자이온을 보여주어 말포민 B류들도 분자량 529와 515의 2종류만 존재하는 것으로 판명되었다(표 1).

또, 환상펩티드화합물인 조말포민 B로부터 단리된 각 동족체의 아미노산 잔기를 조사하기 위해 산 가수분해를 실시하여 아미노산을 분석하였다. Cysteine의 경우, 말포민에는 2개의 cysteine 잔기가 포함^{20,23)}되어 있으므로 분석에서 제외되었다. 표 1에 말포민 B 동족체들의 아미노산 조성, 분자량 및 HRMS에 의해 유도된 분자식을 나타내었다.

NMR해석에 의한 말포민 동족체의 구조결정

최근, NMR실험이 환상펩티드 화합물의 구조결정에 유효하다고^{14,15)} 알려져 있어 말포민 A류에 대해서 적용한 결과, 그 실효성이 입증되었다¹⁸⁾. 따라서, 말포민 B동족체들에 대해서도 이 수법의 구사를 통해 화학구조를 구명하기로 하였다.

말포민 B_{1a}(1)의 ¹H-¹H COSY 실험(표 2)으로부터, 각 아미노산 잔기내에서 amide수소(NH)는 α -탄소의 methine수소(CHCO)와 결합하고 있는 것으로 확인되었다. 모든 수소피크들은 NH ↔ CHCO ↔ CH ↔ CH₃와 같은 상호 관계에 의해 귀속되었으며, 이를 표 2에 나타내었다. δ 4.76(CHCO)의 피크는 δ 7.07(NH) 및 δ 3.18(SCH₂)과 상관피크를 보여주었으며, δ 4.00(CHCO)과 δ 8.86(NH)간 및 δ 3.17과 δ 3.56(SCH₂)의 methylene 수소들 사이에서도 상관피크가 관측되었다. 이들 상관피크에 의한 결합관계로써 2개의 cysteine 잔기의 존재를 용이하게 확인할 수 있었다. Cysteine처럼 동일한 아미노산 잔기가 복수인 경우는 amide수소의 피크위치(chemical shift)값이 작은 쪽을 1(Cys 1), 큰 쪽을 2(Cys 2)로서 표기하였다. 4.02(CHCO)에서는 δ 8.18(NH) 및 δ 2.09(CH₃CHCH₃)와의 상관피크들이 관측되었으며, δ 2.09(CH₃CHCH₃)는 methyl수소들과 최종적으로 스피결합을 나타내어, 이 시그널들은 valine 잔기에서 유래된 것임을 알 수 있었다. 또한, δ 4.37(CHCO)인 methine수소

Table 1. Results of amino acid analyses and molecular weights of malformin B's

Malformin	Amino acid	M+	Molecular formula
B _{1a} (1)	Val (1) : Leu (1) : <i>allo</i> -Ile (1) : Cys (2)	529	C ₂₃ H ₃₉ N ₅ O ₅ S ₂
B _{1b} (2)	Val (1) : Leu (2) : Cys(2)	529	C ₂₃ H ₃₉ N ₅ O ₅ S ₂
B ₂ (3)	Val (2) : Leu (1) : Cys (2)	515	C ₂₃ H ₃₉ N ₅ O ₅ S ₂
B ₃ (4)	Val (1) : Leu (1) : Ile (1) : Cys (2)	529	C ₂₃ H ₃₉ N ₅ O ₅ S ₂
B ₄ (5)	Val (1) : Ile (2) : Cys (2)	529	C ₂₃ H ₃₉ N ₅ O ₅ S ₂
B ₅ (6)	Val (2) : Ile (1) : Cys (2)	515	C ₂₃ H ₃₉ N ₅ O ₅ S ₂

의 δ 7.15(NH) 및 δ 1.61(COCHCH₂)과의 상관 피크, δ 1.61(COCHCH₂)의 δ 1.63(CH₃CHCH₃)과의 상관피크 및 δ 1.63(CH₃CHCH₃)과 methyl수소와의 상관피크들의 결합은 leucine 잔기에 기인된 것으로 판명되었다. *allo*-Isoleucine 잔기의 경우는 δ 4.25(CHCO)의 피크가 δ 8.55(NH) 및 δ 1.56(CH₃CHC₂H₅)과 스핀결합을 하였으며, δ 1.56(CH₃CHC₂H₅)은 methyl 및 ethyl 수소들과도 스핀결합을 한다는 사실에 의해 확인되어졌다. 따라서, 말포민 B_{1a}(1)에 존재하는 5종의 아미노산 잔기는 전기의 NMR해석에 의해 해명되었다. 한편, 말포민 B_{1a}(1)의 아미노산 배열은 공간적으로 근접한 위치 관계에 있는 수소들을 확인할 수 있는 2차원NOESY(그림 2) 실험에 의해 결정하였다. NOESY스펙트럼으로부터, Cys 2의 amide수소(δ 8.86)와 *allo*-Ile의 α -methine수소(δ 4.25)간, *allo*-Ile의 amide수소(δ 8.55)와 Leu의 α -methine수소(δ 4.37)간, Leu의 amide수소(δ 7.15)와 Val의 α -methine수소(δ 4.02)간, Val의 amide수소(δ 8.18)와 Cys 1의 α -methine수소(δ 4.76)간, Cys 2의 amide수소(δ 8.86)와 Cys 1의 amide수소(δ 7.07)간 및 2개의 cysteine 잔기의 methylene 수소들 사이에서 상관피크가 관측되어, 말포민 B_{1a}(1)도 말포민 A류¹⁸⁾처럼 Cys 2와 Cys 1이 -S-S-가교구조를 가지며 구성 아미노산 잔기들이 환상으로 결합된 화합물로 밝혀졌다. 이와 같은 결과에 따라 말포민 B_{1a}(1)의 화학구조는 *cyclo*-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Leu-L-*allo*-Ile으로 결정되었다(그림 3). 말포민 B_{1a}(1)의 입체화학을 보다 확실히 해명하기 위해 B_{1a}(1)을 가수분해한 다음, FDAA에 의한 아미노산 유도체화법¹⁹⁾을 구사하였다. 이 FDAA

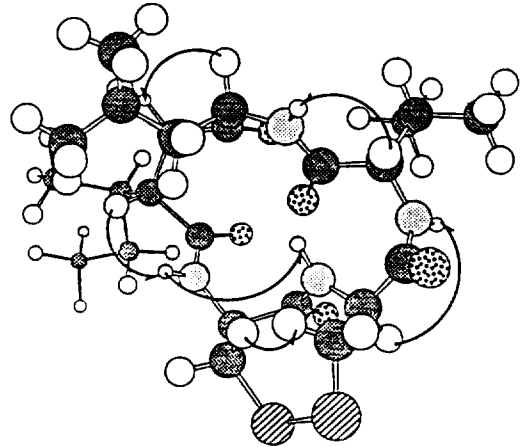


Fig. 2. Computer-generated perspective drawing of malformin B_{1a}. Conformational analyses were performed by MOPAC v 5.0 associated with MOLGRAPH on a SGI IRIS 310 GT(DAIKIN, Tokyo). Arrows represent the observed NOE in the NOESY spectrum of B_{1a}. ●, C; ○, H; ○, N; ⊗, S; ⊙, O.

유도체를 HPLC에 의해 B_{1a}(1)에 함유된 아미노산들의 광학활성을 조사한 결과, NOESY스펙트럼의 해석에 의한 B_{1a}(1)의 절대구조 결정이 정확하다는 사실이 입증되었다.

조말포민 B로부터 단리한 신규 말포민 B류의 ¹H-NMR스펙트럼으로부터, 7~9ppm의 영역에서 5개의 amide수소 유래의 2중선이 관측되었다. 또, 4~5ppm의 영역에서 관측되는 복잡하게 스핀결합한 5개의 피크는 α -methine수소들에 기인된 것으로 밝혀졌다. 그리고 3~4ppm에서는 cysteine 잔기의 β -methine 수소 및 valine, leucine, isoleucine 잔기들의 β - γ 위 수소들의 피크가 중첩되어 나타났다. 이들 각 피

Table 2. Partial proton NMR assignments for malformin B's by ^1H - ^1H COSY experiments Chemical shifts are expressed as δ ppm from TMS in $\text{DMSO-}d_6$

Amino acid	NH	CHCO	CH or CH_2 of side chain
B_{1a} (1)			
Cys 2	8.86	4.00	3.56(CH_{2a}), 3.17(CH_{2b})
allo-Ile	8.55	4.25	1.56(CH), 1.36(CH_{2a}), 1.14(CH_{2b})
Val	8.18	4.02	2.09(CH)
Leu	7.15	4.37	1.63(CH), 1.61(CH_2)
Cys 1	7.07	4.76	3.18(CH_2)
B_{1b} (2)			
Cys 2	8.76	3.95-3.90	3.52(CH_{2a}), 3.23(CH_{2b})
Leu 2	8.45	4.20	1.60(CH), 1.51(CH_{2a}), 1.37(CH_{2b})
Val	7.69	3.95-3.90	2.03(CH)
Leu 1	7.37	4.44	1.60(CH), 1.42(CH_2)
Cys 1	7.13	4.74	3.35-3.25(CH_2)
B₂ (3)			
Cys 2	9.01	3.97	3.53(CH_{2a}), 3.12(CH_{2b})
Leu	8.61	4.23	1.58(CH), 1.54(CH_{2a}), 1.25(CH_{2b})
Val 2	8.34	3.97	2.05(CH)
Val 1	7.26	4.17	1.77(CH)
Cys 1	7.00	4.73	3.30(CH_{2a}), 3.16(CH_{2b})
B₃ (4)			
Cys 2	8.73	4.00	3.53(CH_{2a}), 3.20(CH_{2b})
Leu	8.46	3.93	1.72(CH), 1.54(CH_{2a}), 1.17(CH_{2b})
Val	7.73	3.95	2.05(CH)
Ile	7.37	4.48	1.40(CH), 1.25(CH_2)
Cys 1	7.09	4.74	3.30-3.20(CH_2)
B₄ (5)			
Cys 2	8.92	4.00	3.53(CH_{2a}), 3.13(CH_{2b})
Ile 2	8.65	3.91	1.48(CH), 1.18(CH_2)
Val	8.43	3.95	2.10-2.00(CH)
Ile 1	7.12	4.37	1.51(CH), 1.21(CH_2)
Cys 1	7.02	4.72	3.30(CH_2)
B₅ (6)			
Cys 2	8.82	4.01	3.54(CH_{2a}), 3.20(CH_{2b})
Ile	8.48	3.97	1.74(CH), 1.53(CH_{2a}), 1.19(CH_{2b})
Val 2	8.15	3.99	2.08(CH)
Val 1	7.22	4.21	1.78(CH)
Cys 1	6.94	4.74	3.25(CH_2)

Chemical shifts are expressed as δ ppm from TMS in $\text{DMSO-}d_6$

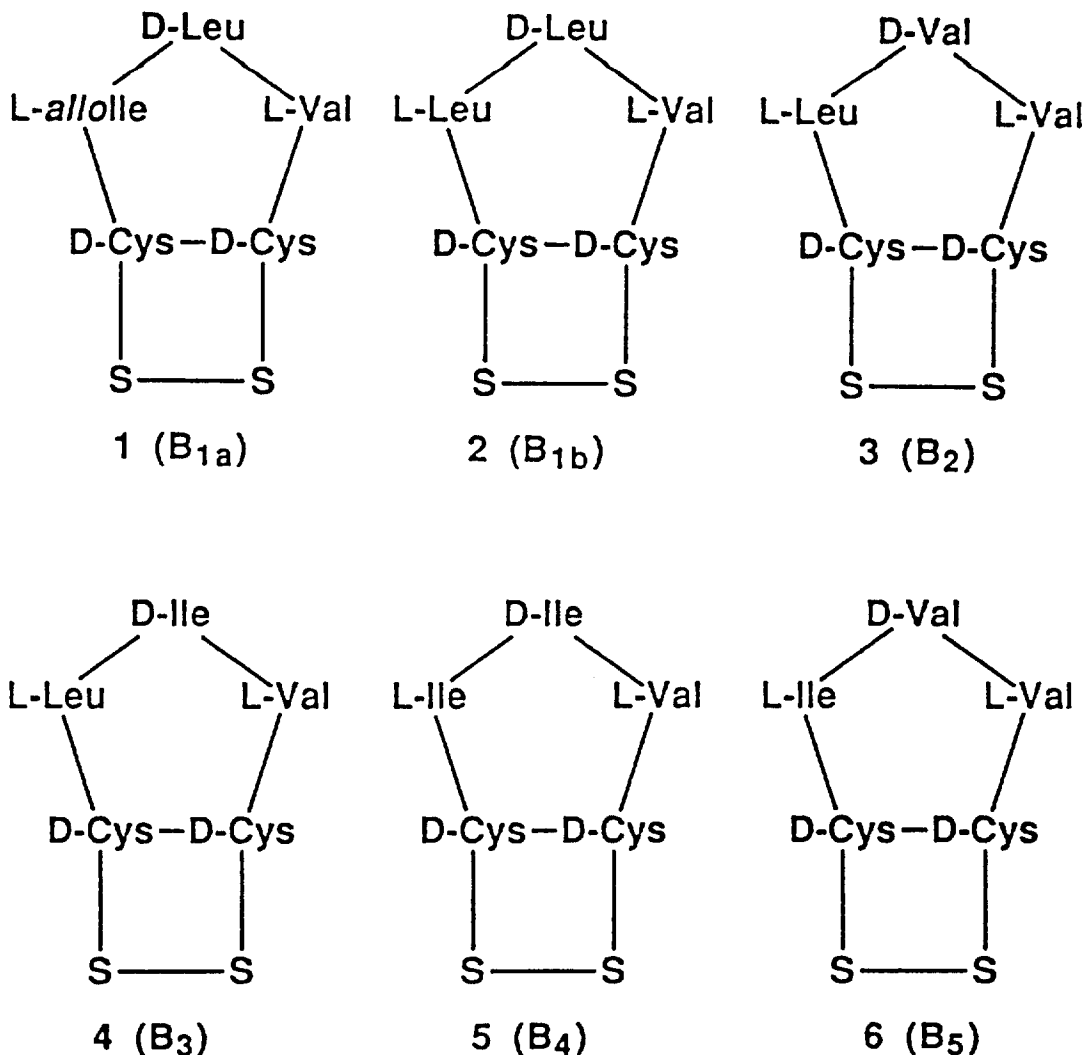


Fig. 3. Structures of malformin B's

크의 귀속은 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY스펙트럼으로부터 전술한 바와 같은 해석 순서에 의거하였으며, 이 결과를 표 2에 정리하여 나타내었다. 또한, 말포민 B_{1b}(2)와 B₂(3)의 입체화학을 조사하기 위해 2차원NOESY 실험 및 FDAA 유도체화법을 실시하여 말포민 B_{1b}(2)는 *cyclo*-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Leu 1-L-Leu 2로서, 말포민 B₂(3)는 *cyclo*-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Val-L-Leu으로서 화학구조가 확정되었다(그림 3). 이 2종의 말포민 중에서 말포민 B_{1b}(2)는 말포민 A₃의 각종 기분석 결과¹⁸⁾와 일치되었으며, 보고¹⁾된 말포

민 C의 구조와도 동일하여, 이들은 하나의 화합물인 것으로 밝혀졌다.

이와 같이 각종 NMR스펙트럼의 해석은 말포민류의 구조결정에 있어서 유효적절한 방법이지만, 말포민 B₃(4), B₄(5) 및 B₅(6)처럼 미량의 시료에서는 ^1H -NMR스펙트럼 이외의 각종 NMR수법을 구사할 수 없었다. 그러나, 지금까지 확정된 말포민 동족체의 ^1H -NMR스펙트럼을 면밀하게 해석한 결과, 이들 말포민류에 있어서 amide수소의 피크위치(chemical shift)는 각 구성 아미노산의 분자내 공간적 배열에 의

존한다는 사실이 인정되었다. 즉, 아미노산 배열을 *cyclo*-D-Cys 1-AA 1-AA 2-AA 3-D-Cys 2 로 표기할 경우, 각 amide 수소의 피크위치(표 3)는 예외없이 D-Cys 2 > AA 3 > AA 1 > AA 2 > D-Cys 1의 순으로 관측되었다. 이러한 경험칙에 의거한 말포민류의 아미노산 배열은 후술의 MS/MS 실험에서도 입증되었다. 또한, 종합 분자계산시스템인 MOLGRAPH(Daikin)을 사용한 분자역학계산의 결과(미발표 자료), 안정한 입체화학적 3차원 구조를 취하기 위한 각 아미노산의 광학활성은 AA 1 및 AA 3가 L체이며 AA 2의 광학활성은 D체인 것으로 나타났다. 이와 같은 결과의 적용에 의해 말포민 B₃(4)는 *cyclo*-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Ile-L-Leu,

B₄(5)는 *cyclo*-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Ile-L-Ile, B₅(6)는 *cyclo*-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Val-L-Ile의 화학구조로서 결정되어졌다(그림 3).

말포민 동족체의 MS/MS 실험

말포민류에 대한 MS/MS 실험은 구성 아미노산 잔기들의 배열의 결정을 위해 수행하였다. 각 말포민 동족체의 분자이온(MH⁺)으로부터의 CID(collison induced dissociation)스펙트럼은 1개의 아미노산씩 순서대로 개열된 2개의 상대강도가 큰 daughter이온들(*m/z* 113 : Leu, Ile) (*m/z* 99 : Val)을 보여주었다. 말포민 B동족체들의 FAB/MS/MS스펙트럼으로부터, B_{1a}(MH⁺ *m/z* 530)는 *m/z* 417(MH⁺ - *allo*-Ile) 및 *m/z* 304 (MH⁺ - *allo*-Ile - Leu), B_{1b}(MH⁺ *m/z* 530)는 *m/z*

Table 3. Relationship between the amino acid sequences of malformins and the chemical shifts of the amide protons

Malformin	Cys 2	AA 3	AA 1	AA 2	Cys 1
A ₁	8.87	8.61	7.79	7.41	7.13
A ₂	8.75	8.46	7.73	7.43	7.15
A ₃	8.76	8.45	7.69	7.37	7.13
A ₄	8.95	8.61	8.39	7.25	6.95
B _{1a}	8.86	8.55	8.18	7.15	7.07
B _{1b}	8.76	8.45	7.69	7.37	7.13
B ₂	9.01	8.61	8.34	7.26	7.00
B ₃	8.73	8.46	7.73	7.37	7.09
B ₄	8.92	8.65	8.43	7.12	7.02
B ₅	8.82	8.48	8.15	7.22	6.94

All data were taken in *d*₆-DMSO solvent, and chemical shifts are expressed in δ ppm from TMS as an internal standard. The data for malformin A's are listed for comparison. The amino acid sequence is expressed as *cyclo*-D-Cys 1-AA 1-AA 2-AA 3-D-Cys 2. In this table, it should be noted that the values for chemical shift decline in the order D-Cys 2 > AA 3 > AA 1 > D-Cys 1.

Table 4. Partial assignment of the fragmentation from MS/MS experiments.

Malformin	MH ⁺	<i>m/z</i> (-AA 3)	<i>m/z</i> (-AA 2)
B _{1a} (1)	530	417(- <i>allo</i> -Ile)	304(-Leu)
B _{1b} (2)	530	417(-Leu)	304(-Leu)
B ₂ (3)	516	403(-Leu)	304(-Val)
B ₃ (4)	530	417(-Leu)	304(-Ile)
B ₄ (5)	530	417(-Ile)	304(-Ile)
B ₅ (6)	516	403(-Ile)	304(-Val)

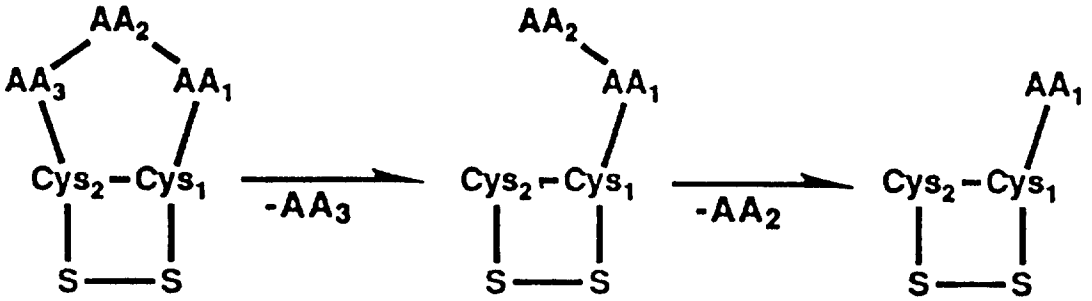


Fig. 4. Possible interpretation of the fragmentation of malformin B's in the MS/MS experiments.

417(MH⁺ - Leu) 및 *m/z* 304(MH⁺ - Leu - Leu), B₂(MH⁺ *m/z* 516)는 *m/z* 403(MH⁺ - Leu) 및 *m/z* 304(MH⁺ - Leu - Val), B₃(MH⁺ *m/z* 530)는 *m/z* 417(MH⁺ - Leu) 및 *m/z* 304(MH⁺ - Leu - Ile), B₄(MH⁺ *m/z* 530)는 *m/z* 417(MH⁺ - Ile) 및 *m/z* 304(MH⁺ - Ile - Ile), B₅(MH⁺ *m/z* 516)는 *m/z* 403(MH⁺ - Ile) 및 *m/z* 304(MH⁺ - Ile - Val)의 daughter 이온들을 나타내었다(표 4). 이 daughter 이온들의 해석에 의하면, 말포민류의 개열양식은 Cys 2와 AA 3사이의 화학결합에서부터 개열이 시작되어 AA 3 및 AA 2가 순차적으로 개열되는 형태를 취하는 것으로 인정되었다(그림 4). 따라서, 전술한 각종 기기분석으로부터 획득된 결과에 의해 말포민 B동족체들에 대한 화학구조상의 문제는 완전히 해명되었다.

식물생리활성

단리한 말포민 B동족체들이 나타내는 생리활성에 대한 조사는 말포민류에 있어서 특징적인 환상펩티드 구조와 식물생리활성 발현기구와의 인과관계를 해명한다는 점에서 흥미롭다. 말포민류가 관여하는 식물생리활성은 다양하지만, 본 연구에서는 말포민류의 연구에 있어서 널리 사용되어지고 있는 옥수수 근부의 굴곡활성⁹⁾ 및 녹두 상배축절편의 신장활성¹²⁾을 식물생리활성 검정의 지표로서 택하였다.

말포민 동족체의 옥수수 근부굴곡활성

말포민 동족체의 옥수수의 근부생리에 미치는 영향을 이하의 방법으로 조사하였다. 즉, 각 농도별로 조제한 피검시료 중의 옥수수 종

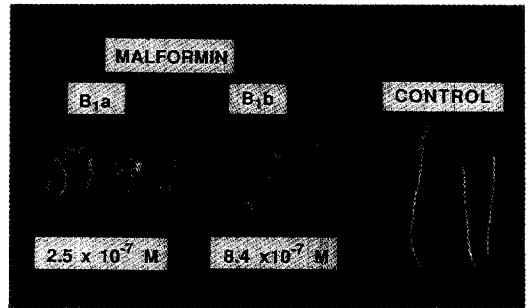


Fig. 5. Corn root curvatures induced by malformin B_{1a} and B_{1b}.

자를 암조건하 28℃로 발아시켰다. 24시간 후, 균일한 발아 종자를 선발하여 동일 조건하에서 48시간 동안 생육시켰으며, 활성의 평가는 뿌리가 90° 이상의 굴곡각을 갖는 유묘의 출현율을 지표로 하여 수행하였다.

Izhar 등¹⁷⁾은 말포민의 근부굴곡활성이 근부신장의 억제와 관련되어 있으며, 말포민의 작용점을 근단 부위로 추정한 바 있다. 본 연구에서는 Izhar 등¹⁷⁾의 보고에서처럼, 10⁻⁵M 부근의 고농도 처리에서 근생장의 억제가 관찰되었다. 그림 5에 전형적인 옥수수 근부굴곡활성의 발현 양상을 나타내었다.

말포민 B동족체도 A동족체와 같이¹⁸⁾, 옥수수 종자의 발아 단계에 있어서 본질적으로 동일한 활성을 나타내었다. 그러나, 이들의 생리활성곡선(그림 6)을 살펴보면, 동족체별로 농도의존성이 미묘하게 상이하다는 것을 알 수 있다. 일반적인 경향으로서 분자량 529의 동족체가 분자량 515의 동족체에 비해 높은 활성을

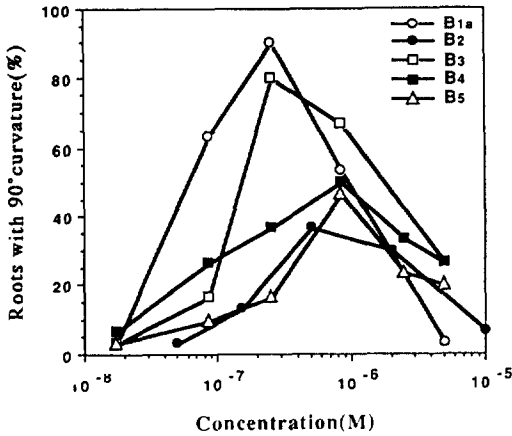


Fig. 6. Effect of malformin B's on corn root curvature. Seeds were germinated on filter paper moistened with the test solutions at 28°C for 3 days.

나타내었다. 전보¹⁸⁾의 말포민 A₁과 A₃(B_{1b})처럼, 분자량 529의 B_{1a}, B₃ 및 B₄는 10⁻⁶M 이하의 농도에서 높은 근부굴곡활성을 보여주는데 대해서, 분자량 515의 A₂와 A₄는 10⁻⁶M 이상의 농도를 요구하면서도 분자량 529인 말포민류의 활성을 증가하지는 못하였다. 말포민의 분자량과 HPLC스펙트럼상의 retention time 사이에는 일정한 상관관계가 있으며, 높은 활성을 나타낸 말포민류는 retention time이 긴 그룹에 속하였다. 이러한 사실은 말포민분자 전체의 극성이 근부굴곡활성에 대하여 영향을 미친다는 것을 시사한다.

다음으로, 이 활성 결과를 각 동족체의 구조와 비교하여 고찰하면, 이들의 구성 아미노산의 구조 및 배열에 대한 말포민 수용부위에 있어서의 인식양식이 해석 가능하다. 말포민 A₁¹⁸⁾의 제4-제5 아미노산 잔기인 D-Leu-L-Ile배열로부터 D-Leu-L-*allo*-Ile배열로 바뀌면 B_{1a}가 되고, D-Ile-L-Leu배열로 바뀌면 B₃에 해당된다. 이들 3종의 동족체는 모두 최고의 활성을 보였지만, 유사한 지용성기의 분포를 가지는 A₃¹⁸⁾의 D-Leu-L-Leu배열 또는 B₄의 D-Ile-L-Ile배열로 바뀌면 유의의 활성 저하가 인정되었다. 제1~제3 아미노산 잔기인 D-Cys-D-Cys-L-Val배열은 모든 말포민류에 있어서 공통적인

구조단위이므로 옥수수 근부의 말포민 수용부의 경우, 제4-제5 아미노산 잔기의 구조 변화를 민감하게 인식하는 것으로 사료된다. 이러한 활성변화는, D-Leu-L-Leu배열과 같이 동일한 측쇄구조가 연결되어 있는 구조보다는 측쇄구조가 상이한 leucine과 isoleucine의 조합이 제4-제5 아미노산 잔기에 존재하는 구조에서 말포민 분자가 수용체와 결합하기 위한 최적 형태를 취할 수 있다는 것을 시사한다. Bodanszky 등⁵⁾은 A₁의 제3·제5 아미노산 잔기가 서로 바뀐 배열을 가진 allomalformin (cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Ile-D-Leu-L-Val)을 합성하여 그 생리활성이 A₁과 같으며, 입체배좌(ORD, CD스펙트럼) 및 HPLC상의 retention time도 동일하다고 보고한 바 있다. 이와 같은 결과는, allomalformin이 A₁¹⁸⁾과 분자전체의 극성이 같을 뿐만 아니라, 본 연구에서 확인된 것처럼 A₁과 마찬가지로 상이한 아미노산 잔기(L-Ile-D-Leu)의 조합으로 되어 있으므로 이 3차원적으로 유사한 부분이 수용부에 접근할 수 있기 때문이라고 해석되어진다.

한편, 말포민 A₁의 -S-S-가교구조의 환원으로 개열된 화합물이나^{2,16)}, 2개의 cysteine이 격리된 -S-S-가교구조(cyclo-D-Cys-L-Val-D-Cys-D-Leu-L-Ile)를 합성^{3,16)}한 화합물은 활성이 없다고 알려져 있다. 이 사실들은 인접한 2개의 cysteine의 -S-S-가교구조 형성에 의해 말포민의 환상구조가 활성형으로 고정되어진다는 것을 암시하고 있다. 따라서, 말포민류의 활성발현에 있어서 -S-S-가교구조가 중요한 요인의 하나라는 사실을 알 수 있다.

말포민 동족체의 녹두 상배축신장활성

말포민이 보여주는 다양한 생리활성 중, 강남채두 등의 콩과식물 유묘의 정아 성장점에 말포민을 처리하면 줄기와 엽병의 기형유도나 절간신장이 억제되는 현상⁸⁾을 나타내지만, 강남채두와 녹두의 상배축절편에 말포민을 흡수시키면 신장이 촉진¹²⁾된다고 알려져 있다. 이처럼 동일 식물에 대한 억제와 촉진이라는 반대의 생리활성을 나타내는 원인은 정아조직과 상배축절편조직의 성숙도가 상이한 때문이라

고 생각되어지고 있다¹²⁾. 또한, 지베렐린과 말포민의 상가적인 작용에 의한 녹두 상배축절편의 신장 촉진 및 말포민의 정아처리에 의한 절간신장 억제제가 지베렐린에 의해 경감된다는 사실도 보고되어 있다¹²⁾. IAA(Indole-3-acetic acid)의 생합성이 활발한 녹두의 정아를 제거하면 상배축의 신장이 촉진되며, 고농도의 IAA가 처리된 녹두 유묘의 신장이 저해된다는 등의 현상은 말포민의 작용과 유사하다¹²⁾. 이외에도 에틸렌과 파이토크롬이 관련된 생리반응의 유도에 관해서는, 말포민이 명조조건에서 육성한 강남채두의 녹색유묘절편에 작용하여 에틸렌 생성을 촉진시키지만, 암조조건에서 육성한 백화유묘절편에서는 작용하지 않는다고 알려져 있다¹¹⁾. 이와 같은 말포민의 생리활성들은 식물호르몬의 작용과 깊게 관련되어 있는 것으로 추정되어지고 있다. 따라서, 본 연구의 녹두 상배축에 대한 신장활성의 검토 결과에 의해 획득된 말포민류의 화학구조적 요소에 관한 정보는, 말포민과 식물호르몬의 상호작용 연구에 있어서 유용한 자료를 제공할 수 있으리라 생각되어졌다.

녹두 상배축절편을 이용한 말포민류의 생리활성 검정은, 녹두 종자를 29℃, 연속광하에서 6일간 생육시킨 균일한 유묘를 7cm 길이로 절

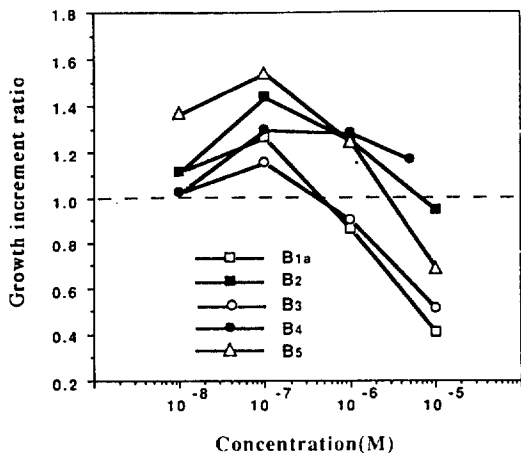


Fig. 7. Effect of malformin B's on the growth stimulation of mung bean segments. The segments were incubated in test solutions at 29℃ for 2 days.

단하여 검정재료로써 사용하였다. 이 유묘의 상배축절편을 각 농도의 시료수용액 중에 담구어 전기 조건에서 2일간 육성한 후, 상배축의 신장증가분을 측정하였다.

이 검정의 결과, 말포민 B₅의 활성은 최적농도인 10⁻⁷M에서 상배축의 신장을 무처리구의 1.5배 정도로 촉진하였다(그림 7). 그림 7로부터, 말포민 A동족체와 마찬가지로 B동족체 역시 10⁻⁷M에서 최고의 신장촉진활성을 나타내었으며, 10⁻⁵M에서는 생장이 저해되는 경향이였다. 한편, 이들 B동족체의 분자량과 활성의 관련성은, 옥수수 근부굴곡활성의 결과와 다른 것으로 판명되었다. 즉, 분자량 515의 B₂와, B₃가 분자량 529의 B_{1a}, B₃ 및 B₄보다도 높은 활성을 발현하여, 상배축신장활성은 말포민 분자전체의 극성에 의한 영향을 받지 않는다는 사실이 확인되었다.

높은 상배축신장활성을 나타낸 말포민 B₂와 B₅는 제4-제5 아미노산 잔기의 배열이 각각 D-Val-L-Leu, D-Val-L-Ile으로서, 여기에서 단순한 규칙성을 찾아낼 수 없었다. 그러나, 말포민 B₃와 B₄처럼 제4 아미노산 잔기가 D-Ile인 경우에는 현저한 활성의 저하가 확인되었다. 또한, 제4 아미노산 잔기로서 D-Leu이 함유된 전보¹⁸⁾의 말포민 A₁, A₂, A₃(B_{1b})와 말포민 B_{1a}의 비교·검토에 의해, 상배축신장활성의 발현 기구는 제5 아미노산 잔기가 L-Ile이나 D-Leu일 때가 가장 적합한 수용조건으로서 인정되었다.

전술한 바와 같이, 옥수수의 근부굴곡활성과 녹두의 상배축신장활성간에서 말포민류에 대하여 명료하게 상이한 구조 요구성이 나타났다. 이것은 옥수수 근부 및 녹두 상배축에 존재하는 말포민의 수용기구가 각각 별개의 성질을 가지고 있기 때문에, 수용체의 말포민에 대한 인식 양식에 있어서 차이가 있다는 것을 시사하고 있다. 단자엽식물인 옥수수와 쌍자엽식물인 녹두 모두가 말포민류에 대한 수용 시스템을 소유하고 있는 것은 식물의 진화 및 분화에 관련된 흥미로운 현상이라고 할 수 있다.

단일 물질에 의해 일어나는 복잡한 생리현상의 해명을 위해서 이들 현상이 복수의 스텝들로 이루어진 집합체로서 생각해 볼 수 있다. 이 스텝들은 기능단백질 및 생체막 등의 생체구성분자와 화학물질 및 광 등의 외부자극과의 사이에서 일어나는 물리화학적 반응에 의해 지배되어지며, 생리기구를 이해하기 위해서는 이러한 스텝들의 발견 및 그 작용원리의 해명이 요구되어진다. 식물생리활성을 나타내는 펩티드성 물질이 생물계에서 발견된 예는 적지만, 근래 천연물화학의 성과로서 enniatin²¹⁾, syringostatin^{14,15)}, syringotoxin¹⁴⁾ 등의 환상펩티드계 식물독소들이 보고되어지고 있어 펩티드구조와 식물생리기구의 관련성을 해석할 기회가 증가하고 있다. 금후, 이들 물질의 작용기작 연구는 수용단백질의 탐색과 같은 분자수준에서 전개되어지리라 생각되어진다. 본 연구를 통해 획득된 말포민 동족체들은 비교적 반응성이 높은 관능기인 -S-S-결합을 분자내에 포함하고 있으며, 구조활성 상관에 관한 자료도 축적되어 있다. 따라서, 말포민 동족체들이 생리기구상 스텝들의 탐색을 위한 분자프로브로써 선구적 역할을 하게 될것을 기대하며, 그 활용 가능성도 충분하다고 여겨진다.

적 요

말포민 B로부터 신규의 B₃, B₄ 및 B₅를 포함한 6종의 B동족체들이 단리·구조결정되었다. 본 연구에 의해 말포민 B동족체의 화학구조는, B_{1a}(1)가 *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Leu-L-alle*, B_{1b}(2)가 *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Leu-L-Leu*, B₂(3)가 *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Val-L-Leu*, B₃(4)가 *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Ile-L-Leu*, B₄(5)가 *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Ile-L-Ile*, B₅(6)가 *cyclo-D-Cys-D-Cys-L-Val-D-Val-L-Ile* 으로서 확정되었다. B's, B_{1b} C 이들 중, 말포민 B_{1b}(2)의 화학구조는 말포민 A₃¹⁸⁾ 및 말포민 C¹⁾와 동일한 것으로 판명되었다.

단리된 말포민 B동족체에 대해서 옥수수 근부굴곡활성과 녹두 상배축신장활성을 지표로

하여 생물검정을 실시한 결과, 모든 B동족체가 활성을 나타내었다. 옥수수 근부굴곡활성의 검정으로부터, 분자량 529의 동족체가 분자량 515의 동족체보다 높은 활성을 보여주었으며, 이는 HPLC상의 retention time에서 확인된 바와 같이, 전체 말포민분자의 극성이 옥수수 근부굴곡활성에 대해서 영향을 미친다는 사실을 시사한다. 또한, 말포민의 구조를 유지시켜주는 -S-S-가교구조와 제4-제5 아미노산 잔기에 측쇄구조가 상이한 leucine과 isoleucine의 조합이 말포민 수용부위와의 결합에 있어서 최적의 형상을 취할 수 있다는 점에서 말포민류의 활성 발현에 중요한 구조적 요소들일 것으로 추정되어진다. 말포민 B_{1a}는 0.25 μM에서 90%의 옥수수 근부굴곡활성을 나타내었다. 그러나, 녹두 상배축신장활성의 경우 분자량에 따른 활성의 차이는 인정되지 않았으며, 말포민 B₅의 처리시 0.1 μM에서 대조구에 비해 154%의 신장축진을 보여주었다.

인 용 문 헌

1. Anderegg R.J., K. Biemann, G. Büchi, and M. Cushman. 1975. Malformin C, a new metabolite of *Aspergillus niger*. J. Amer. Chem. Soc. 98 : 3365-3370.
2. Anzai K. and R.W. Curtis. 1965. Chemical studies on malformin-III. Structure of malformin A. Phytochemistry 4 : 263-271.
3. Bodanszky M. and G.L. Stahl. 1974. The structure and synthesis of malformin A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71 : 2791-2794.
4. Bodanszky M. and G.L. Stahl. 1974. Structure and synthesis of malformin A₁. Bioorg. Chem. 4 : 93-105.
5. Bodanszky M., M.A. Bednarek, A.E. Yiotakis, and R.W. Curtis. 1982. Allomalformin. Int. J. Peptide Protein Res. 20 : 16-25.
6. Ciarlante D. and R.W. Curtis. 1976. Studies on the distribution of ¹⁴C-malformin A in major fractions of *Phaseolus vulgaris* L.

- Plant & Cell Physiol. 17 : 509-514.
7. Ciarlant D. and R.W. Curtis. 1977. Isoation and characterization of the cell wall receptor of ^{14}C -malformin in *Phaseolus vulgaris* L. Plant & Cell Physiol. 18 : 225-234.
 8. Curtis R.W. 1958. Curvatures and malformations in bean plants caused by culture filtrate of *Aspergillus niger*. Plant Physiol. 33 : 17-22.
 9. Curtis R.W. 1958. Root curvatures induced by Culture filtrates of *Aspergillus niger*. Science 128 : 661-662.
 10. Curtis R.W. and G. Fellenberg. 1972. Effect of malformin on adventitious root formation and metabolism of indolacetic acid- ^{14}C by *Phaseolus vulgaris*. Plant Cell Physiol. 13 : 715-726.
 11. Curtis R.W. and W.W. John. 1975. Effect of malformin on phytochrome-and ethrel-mediated responses. Plant Cell Physiol. 16 : 719-728.
 12. Curtis R.W. 1976. A mung bean assay for malformin-induced growth stimulation. Plant Physiol. 57 : 365-368.
 13. Curtis R.W. 1977. Studies on the stimulation of abscission by malformin on cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. Plant Cell Physiol. 18 : 1331-1334.
 14. Fukuchi, N., A. Isogai, and A. Suzuki. 1991. Stereochemistry of syringostatin, syringomycin and syringotoxin, phytotoxins of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Agric. Biol. Chem. 55 : 625-627.
 15. Isogai A., N. Fukuchi, S. Yamashita, K. Suyama, and A. Suzuki. 1989. Syringostatins, novel phytotoxins produced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Agric. Biol. Chem. 53 : 3117-3119.
 16. Isono K. and R.W. Curtis. 1964. Chemical studies on malformin-II. Synthesis of cyclic pentapeptides related to malformin A. Phytochemistry 3 : 277-287.
 17. Izahar S., J.M. Bevington, and R.W. Curtis. 1969. Effect of malformin on root growth. Plant Cell Physiol. 10 : 687-698.
 18. 金建佑. 1994. 식물생장조절물질 말포민 A 동족체의 화학구조 및 생리활성. 韓雜草誌 15(1) : 73~84.
 19. Marfey, P. 1984. Determination of D-amino acids. II. Use of a bifunctional reagent, 1,5-difluoro-2,4,-dinitrobenzene. Carlsberg Res. Commun. 49 : 591-596.
 20. Marumo S. and R.W. Curtis. 1961. Chemical studies on malformin. I. Malformin A. Phytochemistry 1 : 245-257.
 21. Shemyakin, M.M., Yu. A. Ovchinnikov, V.T. Ivanov, and A.V. Evstratov. 1967. Topochemical approach in studies of the structure-activity relation : Enantio-eniatiin B. Nature 28 : 412-413.
 22. Takeuchi S., M. Senn, R.W. Curtis, and F.W. McLafferty. 1967. Chemical studies on malformin-V. Malformin B₁ and B₂. Phytochemistry 6 : 287-292.
 23. Takahashi N. and R.W. Curtis. 1961. Isolation and characterization of malformin. Plant Physiol. 36 : 30-36.